

AUTOREFERAT

I. Imię i Nazwisko: Mariusz Cycoń

II. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

1. **Dyplom doktora nauk medycznych** w dyscyplinie biologia medyczna, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, 2006
Tytuł rozprawy doktorskiej: *Ocena ekotoksykologiczna pestycydów na podstawie analizy mikrobiologicznej*.
Promotor: Prof. dr hab. Jacek Kozdrój
2. **Dyplom magistra biologii**, specjalizacja: biotechnologia roślin i mikroorganizmów, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, 2002
Tytuł pracy magisterskiej: *Izolacja bakterii metaloopornych z gleb*.
Promotor: Prof. dr hab. Lesław Badura

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

1. **Adiunkt**, Katedra i Zakład Mikrobiologii i Wirusologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, 2011-obecnie.
2. **Adiunkt**, Katedra i Zakład Mikrobiologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, 2010-2011.
3. **Wykładowca**, Katedra i Zakład Mikrobiologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, 2008-2010.
4. **Specjalista ds. Mikrobiologii i Parazytologii**, Zakład Inżynierii Środowiska Eko-Projekt (obecnie SGS Polska, *Société Générale de Surveillance*), Pszczyna, Funkcja: Kierownik Działu Mikrobiologii i Parazytologii, 2004–2008.
5. **Adiunkt**, Pracownia Toksykologii Organizmów Glebowych, Zakład Badań Ekotoksykologicznych, Instytut Przemysłu Organicznego, Oddział w Pszczynie, Funkcja: Kierownik Pracowni, 2007-2008.
6. **Asystent**, Pracownia Toksykologii Organizmów Glebowych, Zakład Badań Ekotoksykologicznych, Instytut Przemysłu Organicznego, Oddział w Pszczynie, Funkcja: Kierownik Pracowni, 2003-2007.
7. **Młodszy specjalista**, Pracownia Toksykologii Organizmów Glebowych, Zakład Badań Ekotoksykologicznych, Instytut Przemysłu Organicznego, Oddział w Pszczynie, 2002-2003.

IV. Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

A) Tytuł osiągnięcia naukowego

Ocena potencjału biodegradacyjnego bakterii glebowych i wykorzystanie ich w procesie bioremediacji gleb skażonych wybranymi pestycydami.

B) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego

(autorzy^a, rok wydania, tytuły publikacji, wydawnictwo, tom, strony, IF^b, MNiSW^c, Cyt.: WoS/Scopus)

^aOświadczenia wszystkich współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie poszczególnych publikacji znajdują się w Załączniku 5.

^bWartość IF wg JCR dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z rokiem ich opublikowania.

^cPunktację MNiSW dla poszczególnych publikacji podano zgodnie z rokiem 2012.

1. **Cycoń M., Żmijowska A., Piotrowska-Seget Z. 2013a.** *Enhancement of deltamethrin degradation by soil bioaugmentation with two different strains of Serratia marcescens. International Journal of Environmental Science and Technology* DOI: 10.1007/s13762-013-0322-0 (IF₂₀₁₂ 1,844; IF_{5-letni} 1,984; 35 pkt MNiSW; Cyt.: WoS 0, Scopus 0).

Wkład habilitanta: 80% - autor korespondencyjny, koncepcja pracy, projekt eksperymentu, wykonanie eksperymentalnej części pracy (izolacja szczepów bakterii z gleby, identyfikacja bakterii na podstawie cech biochemicznych, częściowo na podstawie profilu kwasów tłuszczowych, identyfikacja genetyczna bakterii, oznaczenie parametrów fizykochemicznych gleb, przygotowanie próbek gleb do eksperymentu, przygotowanie pożywek mineralnych, przygotowanie inokulum bakterii i wprowadzenie do pożywek i gleb, pobieranie próbek w trakcie eksperymentu, oznaczenie stężeń metabolitu), opracowanie wyników (przygotowanie tabel i rycin, przeliczenia kinetyki degradacji pestycydów, analiza statystyczna wyników), interpretacja wyników, napisanie manuskryptu.

2. **Cycoń M., Żmijowska A., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2013b.** *Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading Serratia marcescens to remove other organophosphorus pesticides from soils. Journal of Environmental Management*, 117, 7-16 (IF₂₀₁₂ 3,057; IF_{5-letni} 3,545; 35 pkt MNiSW; Cyt.: WoS 1, Scopus 1).

Wkład habilitanta: 70% - autor korespondencyjny, koncepcja pracy, projekt eksperymentu, wykonanie eksperymentalnej części pracy (oznaczenie parametrów fizykochemicznych gleb, przygotowanie próbek gleb do eksperymentu, przygotowanie pożywek mineralnych, identyfikacja genetyczna bakterii, przygotowanie inokulum bakterii i wprowadzenie do pożywek i gleb, pobieranie próbek w trakcie eksperymentu, oznaczenie stężeń metabolitów), opracowanie i interpretacja wyników (przygotowanie tabel i rycin, przeliczenia kinetyki degradacji pestycydów, analiza statystyczna wyników), interpretacja wyników, napisanie manuskryptu

3. **Cycoń M., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2011a.** *Biodegradation kinetics of the benzimidazole fungicide thiophanate-methyl by bacteria isolated from loamy sand soil. Biodegradation* 22, 573-583 (IF₂₀₁₁ 2,017; IF_{5-letni} 2,202; 25 pkt MNiSW; Cyt.: WoS 9, Scopus 10).

Wkład habilitanta: 80% - autor korespondencyjny, koncepcja pracy, projekt eksperymentu, wykonanie pracy eksperymentalnej (izolacja szczepów bakterii z gleby, identyfikacja bakterii na podstawie cech biochemicznych i częściowo na podstawie profilu kwasów tłuszczowych,

oznaczenie parametrów fizykochemicznych gleby, przygotowanie próbek gleby do eksperymentu, przygotowanie pożywek mineralnych, przygotowanie inokulum bakterii i wprowadzenie do pożywek i gleb, pobieranie próbek w trakcie eksperymentu), opracowanie wyników (przygotowanie tabel i rycin, przeliczenia kinetyki degradacji pestycydów, analiza statystyczna wyników), interpretacja wyników, napisanie manuskryptu.

4. **Cycoń M.**, Żmijowska A., Piotrowska-Seget Z. **2011b**. *Biodegradation kinetics of 2,4-D by bacterial strains isolated from soil. Central European Journal of Biology* 6, 188-198 (IF₂₀₁₁ 1,000; IF_{5-letni} 0,936; 20 pkt MNiSW; Cyt.: WoS 2, Scopus 2).

Wkład habilitanta: 80% - autor korespondencyjny, koncepcja pracy, projekt eksperymentu, wykonanie eksperymentalnej części pracy (izolacja szczepów bakterii z gleby, identyfikacja bakterii na podstawie cech biochemicznych i częściowo na podstawie profilu kwasów tłuszczowych, oznaczenie parametrów fizykochemicznych gleby, przygotowanie próbek gleby do eksperymentu, przygotowanie pożywek mineralnych, przygotowanie inokulum bakterii i wprowadzenie do pożywek i gleb, pobieranie próbek w trakcie eksperymentu), opracowanie i interpretacja wyników (przygotowanie tabel i rycin, przeliczenia kinetyki degradacji pestycydów, opracowanie statystyczne wyników), napisanie manuskryptu.

5. **Cycoń M.**, Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. **2009**. *Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by Serratia sp. and Pseudomonas sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. Chemosphere* 76, 494-501 (IF₂₀₀₉ 3,253; IF_{5-letni} 3,634; 40 pkt MNiSW; Cyt.: WoS 33, Scopus 38).

Wkład habilitanta: 80% - autor korespondencyjny, koncepcja pracy, projekt eksperymentu, wykonanie eksperymentalnej części pracy (izolacja szczepów bakterii z gleby, identyfikacja bakterii na podstawie cech biochemicznych i częściowo na podstawie profilu kwasów tłuszczowych, oznaczenie parametrów fizykochemicznych gleby, przygotowanie próbek gleby do eksperymentu, przygotowanie pożywek mineralnych, przygotowanie inokulum bakterii i wprowadzenie do pożywek i gleb, pobieranie próbek w trakcie eksperymentu), opracowanie wyników (przygotowanie tabel i rycin, przeliczenia kinetyki degradacji pestycydów, analiza statystyczna wyników), interpretacja wyników, napisanie części manuskryptu.

Impact factor* dla publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wg bazy *Journal Citation Reports (JCR)*: **11,171 (IF_{5-letni} 12,301)**

Punktacja MNiSW* publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: **155**

Liczba cytowań* publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego: wg bazy *Web of Science (WoS)* – **45** / wg bazy *Scopus* – **51**.

*Dane z dnia: 3. 10. 2013r.

C) Omówienie celu naukowego ww. prac stanowiących osiągnięcie naukowe i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wprowadzenie

Współczesna, intensywna produkcja roślinna wymaga użycia wielu pestycydów należących do różnych grup chemicznych, które zapewnić mają wysoki plon i jego odpowiednią jakość. Niestety, częste stosowanie tych substancji nie pozostaje bez negatywnych skutków, zarówno dla zdrowia człowieka, jak również środowiska. Ze względu

na sposób stosowania, gleba i żyjące w niej organizmy zazwyczaj pierwsze mają styczność ze stosowanymi pestycydami. Wprowadzone do gleby, pestycydy mogą podlegać różnym przemianom, zarówno fizyko-chemicznym, jak również biologicznym. Jak wykazano, do najważniejszych z nich należy rozkład mikrobiologiczny, a uczestniczące w tym procesie mikroorganizmy należą do różnych grup taksonomicznych. Dlatego też, koniecznym jest prowadzenie badań nad mikroorganizmami wykazującymi zdolność do skutecznej degradacji pestycydów oraz związków powstających z ich rozkładu. Izolacja szczepów mikroorganizmów oraz badania nad ich potencjałem degradacyjnym w stosunku do stosowanych pestycydów może być wykorzystane w planowaniu strategii bioremediacji gleb zanieczyszczonych pestycydami. Szczególnie ma to znaczenie w przypadku pestycydów o wysokim stopniu toksyczności i długim czasie retencji w środowisku, których oddziaływanie na środowisko może utrzymywać się przez dłuższy okres czasu. Celem badań przedstawionych w cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe było: (1) wyizolowanie z gleb nowych szczepów bakterii degradujących wybrane pestycydy należące do różnych grup chemicznych, (2) określenie w warunkach laboratoryjnych ich potencjału degradacyjnego oraz (3) ocena możliwości wykorzystania tych szczepów i ich potencjału w procesie bioremediacji gleb skażonych wybranymi pestycydami, przy zastosowaniu metody bioaugmentacji.

Metodologia badań

W przeprowadzonych badaniach, jako źródło szczepów bakterii degradujących pestycydy, wykorzystano gleby z terenów, na których preparaty chemiczne były stosowane od wielu lat. W celu izolacji bakterii zastosowano procedurę wzbogaconego namnażania (*Enrichment procedure*) w pożywce mineralnej (*MSM, Mineral Salt Medium*) z dodatkiem określonego pestycydu, jako jedynym źródłem węgla i energii. W końcowym etapie procedury uzyskano wzrost poszukiwanych szczepów bakterii na pożywce agarowej MSM w postaci pojedynczych kolonii. Wyizolowane szczepy bakterii, poddano identyfikacji do gatunku na podstawie profilu biochemicznego, profilu kwasów tłuszczowych (metoda FAME, *Fatty Acid Methyl Ester*) i/lub sekwencji genu kodującego 16S RNA.

Potencjał biodegradacyjny wyizolowanych bakterii i ich zdolności do wykorzystania badanych pestycydów badano na podłożu MSM z dodatkiem odpowiedniego pestycydu (50 mg/l), jako jedynym źródłem węgla. Do pożywek wprowadzono określone inokulum bakteryjne (3×10^6 komórek/ml pożywki). Równocześnie, przygotowano dwie kontrole, z których pierwsza stanowiła pożywka bez pestycydu, a druga, pożywka bez inokulum bakterii. W trakcie doświadczeń, prowadzonych w odpowiednich warunkach, pobierano okresowo próbki pożywki w celu oznaczenia szybkości wzrostu użytych szczepów, oznaczenia pH i stężenia badanych pestycydów.

Szczepy bakterii, wykazujące zdolności degradacyjne w stosunku do wybranych pestycydów w pożywce MSM, zostały wykorzystane w dalszych badaniach, mających na celu określenie ich potencjału degradacyjnego i bioremediacyjnego w środowisku glebowym. Potencjał degradacyjny szczepów badano w glebach sterylnych inokulowanych (3×10^6 komórek/g gleby) i skażonych wybranymi pestycydami (50 lub 100 mg/kg gleby), natomiast potencjał bioremediacyjny określono z wykorzystaniem gleb niesterylnych (z naturalną mikroflorą) i dodatkiem określonego pestycydu. Równocześnie, przygotowano próby kontrolne, tj. gleby niesterylne w celu określenia potencjału degradacyjnego mikroflory

autochtonicznej oraz próby gleb sterylnych skażonych pestycydami i bez inokulum bakteryjnego, celem określenia tempa degradacji badanych pestycydów w warunkach abiotycznych. Ze względu na fakt, że rodzaj gleby ma istotny wpływ na procesy degradacji pestycydów, zastosowano gleby charakteryzujące się odmiennymi właściwościami fizykochemicznymi.

Stężenia pestycydów i metabolitów w badanych próbkach, zarówno w pożywce MSM, jak i glebach, oznaczono z wykorzystaniem technik chromatografii gazowej (GC) i/lub wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Kinetyka degradacji badanych pestycydów w pożywce MSM i glebach została oceniona z użyciem algorytmu pierwszego rzędu, a wartości czasu zanikania (DT50) dla poszczególnych pestycydów obliczono z równania liniowego uzyskanego z regresji pomiędzy logarytmem naturalnym stężenia pestycydów do czasu. W przypadku degradacji pestycydów w różnych typach gleb przeprowadzono 3-czynnikową analizę wariancji (ANOVA) w celu określenia procentowej zmienności przypadającej poszczególnym czynnikom, mających wpływ na tempo degradacji pestycydów w glebie. Istotnie statystycznie różnice dla uzyskanych danych ocenione zostały poprzez obliczenie wartości najmniejszych istotnych różnic (test NIR).

Omówienie uzyskanych wyników

W pierwszej pracy, zapoczątkowującej cykl badań nad degradacją pestycydów, wyizolowano z gleby trzy szczepy bakterii charakteryzujące się potencjałem degradacyjnym w stosunku do diazinonu należącego do grupy insektycydów fosforoorganicznych (**Cycoń i wsp. 2009; Zał. 2, pkt. IB, poz. 5**). Jest to jedna z ważniejszych i stosowanych na dużą skalę grupa pestycydów o wysokim stopniu toksyczności dla organizmów żywych i zróżnicowanym czasie retencji w glebie. Identyfikacja wyizolowanych szczepów bakterii degradujących diazinon pozwoliła na zakwalifikowanie bakterii do gatunków *Serratia liquefaciens* (DDS-1) i *Serratia marcescens* (DDS-2) oraz rodzaju *Pseudomonas* (DDS-3). Opublikowane wyniki były pierwszym doniesieniem dotyczącym degradacji diazinonu przez szczepy bakterii należące do rodzaju *Serratia*. Przeprowadzone badania wykazały, że wszystkie izolaty bakterii były zdolne do wzrostu w pożywce MSM z dodatkiem diazinonu w stężeniu 50 mg/l, jako jedynym źródłem węgla i energii. W trakcie 14-dniowego okresu inkubacji odnotowano podobny stopień degradacji diazinonu przez badane szczepy bakterii, na poziomie 80%, 89% i 84%, odpowiednio dla szczepów DDS-1, DDS-2 i DDS-3. W wielu badaniach wykazano, że suplementacja pożywek mineralnych określonymi związkami organicznymi w postaci łatwo przyswajalnych cukrów powodowała przyspieszenie degradacji pestycydów przez wiele szczepów bakterii. W niniejszych badaniach również zastosowano pożywkę MSM z dodatkiem glukozy (1%). Jak wykazały badania, dodanie do pożywki łatwo przyswajalnego źródła węgla spowodowało istotne zwiększenie tempa wzrostu szczepów DDS-1, DDS-2 i DDS-3 oraz degradację diazinonu na poziomie prawie 100%, w tym samym okresie inkubacji. Wykazano, że w tym przypadku szybsze tempo degradacji diazinonu było spowodowane, zarówno rozkładem mikrobiologicznym, jak również zjawiskiem hydrolizy, zachodzącym w wyniku istotnego obniżenia pH pożywki MSM, będącego następstwem rozkładu glukozy. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały istotny wpływ aktywności mikrobiologicznej i procesów chemicznych na tempo rozkładu diazinonu.

Wiele badań nad degradacją pestycydów wykazało, że szczepy mikroorganizmów degradujące określone pestycydy w pożywkach mineralnych charakteryzowały się zdolnością do degradacji tych związków w środowisku glebowym. Podobnie wykazano w przypadku szczepów bakterii degradujących insektycyd diazinon. Badanie biodegradacji diazinonu z użyciem sterylnej gleby inokulowanej poszczególnymi szczepami DDS-1, DDS-2 i DDS-3 wykazało ich zdolność do skutecznej degradacji diazinonu (100 mg/ kg gleby), a obliczone wartości DT50 dla diazinonu mieściły się w zakresie od 11,5 do 24,5 dni. Jakkolwiek, gleba niesterylna z autochtonicznymi zespołami mikroorganizmów charakteryzowała się również potencjałem degradacyjnym w stosunku do diazinonu, to odnotowano 7-dniowy okres lag-fazy, w trakcie którego tylko 2% początkowej dawki diazinonu uległo degradacji i wskazującej na czas potrzebny na przystosowanie się mikroorganizmów do wprowadzonego insektycydu i namnożenie się populacji mikroorganizmów zdolnych do jego degradacji.

Szczepy bakterii degradujące określone pestycydy często charakteryzują się również potencjałem degradacyjnym w stosunku do innych związków należących do tej samej grupy (Abo-Amer, 2011; Chen i wsp., 2011). Ten fakt skłonił mnie do podjęcia badań nad określeniem potencjału degradacyjnego szczepu *Serratia marcescens* degradującego diazinon w stosunku do innych związków z grupy insektycydów fosforoorganicznych (**Cycoń i wsp. 2013b; Zał. 2, pkt. IB, poz. 2**). W badaniach tych wykorzystano wzorce analityczne trzech insektycydów fosforoorganicznych, tj. chlorpyrifosu, fenitrotonu i parationu. W związku z tym, że pestycydy te charakteryzują się wysoką toksycznością, w wielu krajach substancje te zostały wycofane z użycia; jakkolwiek, znaczne ich pozostałości są obecne w glebach i nadal stanowią zagrożenie ekotoksykologiczne. Wyizolowany wcześniej i zidentyfikowany na podstawie metody FAME i profilu biochemicznego szczep *Serratia marcescens*, w niniejszych badaniach został dodatkowo zidentyfikowany na podstawie sekwencji genu kodującego 16S RNA. Podobnie, jak w poprzednich badaniach, potencjał degradacyjny szczepu został zbadany z użyciem pożywki mineralnej MSM i trzech gleb charakteryzujących się różnymi właściwościami fizyko-chemicznymi. Przeprowadzone badania wykazały, że szczep *S. marcescens* był zdolny do wykorzystania wszystkich trzech insektycydów (50 mg/l pożywki) jako jedynych źródeł węgla i energii. Analiza krzywych wzrostu i wyników degradacji pokazała, że badany szczep charakteryzował się większym potencjałem degradacyjnym w stosunku do parationu, niż chlorpyrifosu i fenitrotonu. Fakt ten wynikał prawdopodobnie z nieznacznych różnic w budowie chemicznej badanych związków, a także większej toksyczności chlorpyrifosu i fenitrotonu. Ponadto, mniejszy stopień degradacji tych dwóch insektycydów związany był z pojawieniem się w pożywce 3,5,6-trichloro-2-pirydynolu oraz 3-metylo-4-nitrofenolu, głównych metabolitów rozkładu, odpowiednio dla chlorpyrifosu i fenitrotonu, silnie hamujących wzrost mikroorganizmów. Zjawisko to, zostało również obserwowane w innych badaniach (Matsushita i wsp., 2003; Goda i wsp., 2010).

Wykazano również, że obok procesów chemicznych, degradacja mikrobiologiczna jest jednym z głównych mechanizmów zanikania pestycydów fosforoorganicznych w glebie. Mikroorganizmy autochtoniczne zastosowanych gleb charakteryzowały się potencjałem degradacyjnym w stosunku do wszystkich badanych insektycydów; jakkolwiek, w początkowym okresie degradacji chlorpyrifosu i fenitrotonu zaobserwowano lag-fazę, najdłuższą w glebie piaszczystej o niskiej zawartości frakcji organicznej. Obserwowany efekt

mógł być wynikiem braku wcześniejszego kontaktu mikroorganizmów z badanymi insektycydami i koniecznością namnożenia się szczepów zdolnych do ich degradacji. Mógł być również skutkiem zastosowania wysokiej dawki pestycydów (100 mg/kg gleby), powodującej zahamowanie aktywności metabolicznej mikroorganizmów. W trakcie eksperymentu, 45,3%, 61,4% i 72,5% początkowych dawek chlorpyrifosu, fenitrotonu i parationu zostało usuniętych z gleby piaszczystej, podczas gdy w tym samym czasie stopień degradacji chlorpyrifosu, fenitrotonu i parationu osiągnął 61,4% 79,7% i 64,2% oraz 68,9%, 81,0% i 63,6%, odpowiednio w piasku gliniastym i glebie gliniastej. Badania wykazały, że szczep *S. marcescens* wprowadzony do sterylnych gleb charakteryzował się wyższym potencjałem degradacyjnym (5-13%) w stosunku do badanych insektycydów w porównaniu z tym obserwowanym dla gleb niesterylnych z naturalnie występującymi mikroorganizmami. Ponadto, nie obserwowano początkowej lag-fazy w trakcie degradacji poszczególnych insektycydów. Zdolność szczepu *S. marcescens* do degradacji innych insektycydów fosforoorganicznych może być wyjaśniona faktem, iż szczep ten został wyizolowany z gleby zanieczyszczonej diazinonem, którego struktura chemiczna podobna jest do pestycydów fosforoorganicznych. To podobieństwo pozwoliło przypuszczać, że badany szczep będzie miał zdolność degradowania innych związków należących do tej samej grupy. Z punktu widzenia skutecznej bioremediacji, wydaje się, że najkorzystniejsze byłoby zastosowanie szczepów wykazujących zdolność rozkładu szerokiego spektrum insektycydów fosforoorganicznych. Podobne zjawisko obserwowano we wcześniejszych badaniach z użyciem wielu szczepów bakterii należących m.in. do rodzajów *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter* i *Pseudomonas* (Ohshiro i wsp., 1996; Horne i wsp., 2002; Karpouzias i Singh, 2006, Chino-Flores i wsp., 2012).

Z kolei, bioaugmentacja gleb niesterylnych szczepem *S. marcescens* spowodowała przyspieszenie tempa degradacji insektycydów, co spowodowało spadek wartości DT50 o 8,1-20,7 dni, w porównaniu z glebami z naturalnie występującymi mikroorganizmami. Przyspieszenie degradacji badanych pestycydów fosforoorganicznych można wyjaśnić zwiększeniem katabolicznego potencjału gleby poprzez inokulację szczepem *S. marcescens* oraz synergistycznymi zdolnościami autochtonicznych mikroorganizmów do degradacji wprowadzonych insektycydów. Podobne zjawisko obserwowano we wcześniejszych badaniach nad degradacją innych pestycydów fosforoorganicznych. Na przykład, inokulacja gleby zanieczyszczonej fenitrotonem (100 mg/kg gleby) szczepem *Burkholderia* sp. FDS-1 zwiększyła szybkość zanikania insektycydu. Podobnie, bioaugmentacja gleb szczepami *Enterobacter asburiae* B-14 (Singh i wsp., 2004) lub *Diaphorobacter* sp. GS-1 (Liang i wsp., 2011) przyspieszyła degradację chlorpyrifosu w porównaniu z glebami kontrolnymi. Przeprowadzone badania wykazały również, że rodzaj gleby ma istotne znaczenie w procesie degradacji insektycydów fosforoorganicznych. Jak wykazała 3-czynnikowa ANOVA, szybkość degradacji tych związków była istotnie uzależniona od typu pestycydu, rodzaju gleby, oraz obecności introdukowanych bakterii.

W kolejnych badaniach dotyczących degradacji insektycydu deltametryny (Cycoń i wsp. 2013a) (Zał. 2, pkt. IB, poz. 1), wykazano, że bakterie z rodzaju *Serratia* mogą również efektywnie rozkładać ten związek. Deltametryna należy do grupy syntetycznych pyretroidów i jest jednym z najczęściej stosowanych insektycydów w praktyce rolnej. Stosując procedurę wzbogaconego namnażania wyizolowano z gleby skażonej deltametryną dwa szczepy bakterii (DeI-1 i DeI-2), które zostały zidentyfikowane na podstawie profilu biochemicznego, profilu

kwasów tłuszczowych i sekwencji genu kodującego 16S RNA do gatunku *S. marcescens*. Co ciekawe, szczepy te różniły się kolorem tworzonych kolonii na pożywce agarowej, szczep Del-1 tworzył kolonie czerwone, natomiast szczep Del-2 kolonie kremowe. Profil biochemiczny obu szczepów był podobny, za wyjątkiem cechy dotyczącej zdolności hydrolizy mocznika, którą wykazywał tylko szczep Del-1. Należy podkreślić, że opublikowane wyniki były pierwszym doniesieniem dotyczącym degradacji deltametryny przez szczepy bakterii należące do gatunku *S. marcescens*. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że szczepy Del-1 i Del-2 były zdolne do wzrostu w pożywce MSM z dodatkiem deltametryny (50 mg/l) i degradacji wprowadzonego insektycydu. W trakcie 10-dniowego okresu inkubacji, 88,3% i 82,8% początkowej dawki deltametryny zostało zdegradowane przez szczepy Del-1 i Del-2, dając odpowiednio wartości DT50 dla deltametryny równe 2,8 i 4,0 dni. Generalnie, szczep Del-1 charakteryzował się wyższym potencjałem degradacyjnym w porównaniu ze szczepem Del-2. We wcześniejszych badaniach, również Zang i wsp. (2010) wyizolowali dwa szczepy bakterii JC1 i JCN13 należące do rodzaju *Serratia*, które różniły się między sobą zdolnością produkcji czerwonego pigmentu i hydrolizą mocznika. Ponadto, autorzy stwierdzili zależność pomiędzy hydrofobnością powierzchni komórki (*CSH*, *Cell Surface Hydrophobicity*) a zdolnościami degradacyjnymi obu szczepów *Serratia* sp. Szczep JCN13 charakteryzował się wyższą wartością CSH i potencjałem degradacyjnym w stosunku do pyretroidu beta-cypermetyryny w porównaniu ze szczepem JC1. Różnice w szybkości degradacji deltametryny przez szczepy Del-1 i Del-2 mogły właśnie wynikać z różnic w CSH, a także większej wrażliwości szczepu Del-2 w stosunku do 3-fenoksybenzaldehydu, silnie toksycznego związku i głównego metabolitu powstającego w trakcie rozkładu deltametryny.

Badania dotyczące degradacji deltametryny w różnych typach gleb wykazały, że proces ten w glebach niesterylnych z naturalnie występującymi mikroorganizmami zachodził stosunkowo wolno; jakkolwiek, odnotowano potencjał degradacyjny mikroflory w badanych glebach. W trakcie eksperymentu, od 41,8% do 59,8% początkowej dawki deltametryny (100 mg/kg gleby) zostało zdegradowane, dając wartości DT50 w zakresie od 68,8 do 105,3 dni. Z kolei, w sterylnych glebach znaczne ilości deltametryny (77-89%) pozostawały do końca doświadczenia, wskazując tym samym, że mikrobiologiczny rozkład ma decydujący wpływ na zanikanie deltametryny w glebie. Wprowadzenie szczepów bakterii do sterylnych gleb wykazało, że charakteryzowały się one wyższym potencjałem degradacyjnym w stosunku do deltametryny (16-26% dla szczepu Del-1 i 5-17% dla szczepu Del-2), w porównaniu z tym odnotowanym dla mikroflory gleb niesterylnych. Co ważne, nie odnotowano żadnego okresu lag-fazy w procesie degradacji pyretroidu. Dynamika degradacji deltametryny w niesterylnych glebach inokulowanych poszczególnymi szczepami *S. marcescens* wskazała, że w trakcie pierwszych 2 tygodni, degradacja była stosunkowo powolna, a jej tempo było zbliżone do tego obserwowanego w nieinokulowanych glebach. Pomimo wystąpienia początkowej lag-fazy, bioaugmentacja niesterylnych gleb skażonych deltametryną przy użyciu szczepów Del-1 lub Del-2 spowodowała przyspieszenie tempa degradacji pyretroidu, a jego wartości DT50 spadły, odpowiednio od 33,1 do 58,5 dni i od 25,8 do 46,0 dni w zależności od typu gleby, w porównaniu z wartościami uzyskanymi dla gleb tylko z naturalną mikroflorą. Otrzymane wyniki badań wykazały potencjał badanych szczepów *S. marcescens* do wykorzystania w procesach bioremediacji. W trakcie eksperymentu, stwierdzono również zanikanie, powstałego w trakcie degradacji deltametryny, głównego metabolitu, 3-fenoksybenzaldehydu, co może wskazywać na zdolność do degradacji tego związku przez szczepy Del-1 i Del-2. Podobne zjawisko

obserwowano w badaniach dotyczących degradacji innych syntetycznych pyretroidów. Na przykład, bioaugmentacja gleby skażonej fenwaleratem przy użyciu szczepu *Stenotrophomonas* sp. ZS-S-01 skutkowałą przyspieszeniem degradacji pyretroidu, a uzyskana dla niego wartość DT50 była ośmiokrotnie niższa w porównaniu z tą, którą otrzymano dla degradacji fenwaleratu w glebie bez szczepu bakterii (Chen i wsp., 2011).

Obserwowana na początku degradacji deltametryny lag-faza mogła być wynikiem konieczności zaadaptowania się wprowadzonych szczepów bakterii do obecności pyretroidu, adaptacji szczepów do warunków środowiskowych, jak również namnożenia się szczepów zdolnych do degradacji deltametryny wśród naturalnie występujących mikroorganizmów. Początkowe opóźnienie w rozkładzie deltametryny mogło być również spowodowane oddziaływaniami między wprowadzonymi szczepami a innymi mikroorganizmami i/lub antagonistyczną inhibicją poprzez substancje produkowane przez naturalnie występującą w glebach mikroflorę. Ponadto, zastosowana wysoka dawka pyretroidu (100 mg/kg gleby) mogła mieć również kluczowe znaczenie dla aktywności mikrobiologicznej gleb. Jakkolwiek, stosowanie wysokich dawek pestycydów w tego typu badaniach pozwala na selekcję szczepów bakterii charakteryzujących się bardzo dużym potencjałem degradacyjnym z możliwością użycia ich w procesach bioremediacji skażonych gleb. Przeprowadzone badania wykazały również, że rodzaj gleby ma istotne znaczenie w procesie degradacji deltametryny. Jak wykazała 3-czynnikowa ANOVA, szybkość degradacji deltametryny była znacząco uzależniona od typu gleby, obecności naturalnie występującej mikroflory oraz wprowadzonego inokulum. Ponadto, interakcje pomiędzy wszystkimi czynnikami miały również istotny wpływ na zanikanie pyretroidu. Analiza korelacji wykazała na istnienie istotnych zależności pomiędzy czasem zanikania deltametryny a właściwościami gleb. Wykazano, że im mniejsza zawartość frakcji gliniastej i organicznej w glebie, tym zachodziła szybsza degradacja deltametryny.

Jedną z ważniejszych grup pestycydów są fungicydy należące do grupy benzimidazoli, których przedstawicielami są tiofanat metylu i powstający w trakcie jego przemian główny metabolit karbendazym. We wcześniejszych badaniach wyizolowano wiele szczepów bakterii zdolnych do degradacji karbendazymu. Natomiast brak było doniesień na temat szczepów bakterii zdolnych do degradacji tiofanatu metylu. Dlatego też, podjęto próbę wyizolowania szczepów bakterii uczestniczących w degradacji tego fungicydu (**Cycoń i wsp., 2011a; Zał. 2, pkt. IB, poz. 3**). Procedura wzbogaconego namnażania pozwoliła na wyselekcjonowanie z gleby skażonej tiofanatem metylu dwóch szczepów bakterii TDS-1 i TDS, które zidentyfikowano jako przynależne do rodzajów *Enterobacter* i *Bacillus*. Należy podkreślić, że opublikowane wyniki były pierwszym doniesieniem dotyczącym degradacji tiofanatu metylu przez zdefiniowane szczepy bakterii. Badania degradacyjne z użyciem pożywki MSM i dodatkiem tiofanatu metylu (50 mg/l) wykazały zdolność obu szczepów bakterii do wykorzystania wprowadzonego fungicydu jako jedyne źródła węgla i energii do wzrostu, co potwierdziły krzywe wzrostu szczepów oraz spadek stężenia fungicydu. W trakcie okresu inkubacji, 60% i 77% początkowej dawki tiofanatu metylu zostało zdegradowane, odpowiednio przez szczepy TDS-1 i TDS-2. Z kolei, suplementacja pożywki glukozą, pomimo zwielokrotnienia tempa wzrostu szczepów bakterii, spowodowała zwolnienie tempa degradacji fungicydu i w tym samym okresie inkubacji stopień degradacji wyniósł odpowiednio 39% i 50% początkowej dawki. Ponadto, spowodowało to zmianę kinetyki degradacji tiofanatu metylu, która została opisana reakcją 0-rzędu, w przeciwieństwie do procesu degradacji fungicydu w pożywce MSM bez glukozy, opisanego reakcją 1-rzędu. Otrzymane wyniki były rezultatem

wystąpienia kompetencji substratowej, z racji tego, że glukoza należy do łatwo przyswajalnych źródeł węgla i energii. Podobne wyniki uzyskali Singh i wsp. (2006) badając rozkład chlorpyrifosu przez szczep należący do *Enterobacter* sp. Obserwowana początkowo inhibicja degradacji tiofanatu metylu w obecności glukozy może odzwierciedlać środowiskową adaptację bakterii, w trakcie której łatwo dostępne źródła węgla są preferencyjnie metabolizowane. W chwili wykorzystania łatwo przyswajalnego źródła węgla następuje rozkład pestycydu. Ponadto, znaczny spadek wartości pH pożywki, będący wynikiem rozkładu glukozy, spowodował obniżenie aktywności komórek bakterii oraz wzrost trwałości tiofanatu metylu.

Badania degradacyjne z użyciem sterylnej i niesterylnej gleby wykazały potencjał degradacyjny w stosunku do tiofanatu metylu, zarówno naturalnie występujących mikroorganizmów, jak również wprowadzonych szczepów bakterii. Czas rozkładu (DT50) fungicydu w glebie inokulowanej szczepami TDS-1 lub TDS-2 wyniósł, odpowiednio 6,3 i 5,1 dni. Ponadto, analiza chemiczna wykazała, że główny metabolit, powstały w trakcie rozkładu tiofanatu metylu, został przekształcony w 2-aminobenzimidazol, co potwierdziło zdolność szczepów TDS-1 i TDS-2 do rozkładu również karbendazymu, związku o wysokiej stabilności w środowisku glebowym. Właściwości obu szczepów powodują, że mogą również zostać wykorzystane w procesach bioaugmentacji gleb skażonych karbendazymem.

Do najczęściej stosowanych pestycydów z grupy herbicydów należy kwas 2,4-dichloro fenoksyoctowy (2,4-D), charakteryzujący się stosunkowo dużą mobilnością w środowisku glebowym i podlegający głównie mikrobiologicznym procesom rozkładu. W kolejnych badaniach określono potencjał degradacyjny bakterii, które uczestniczą w rozkładzie tego herbicydu (Cycoń i wsp., 2011b; Zał. 2, pkt. IB, poz. 4). W trakcie prowadzonych badań, wyizolowano z gleby skażonej 2,4-D trzy szczepy bakterii zidentyfikowane na podstawie profilu biochemicznego i profilu kwasów tłuszczowych jako *Burkholderia cepacia* (DS-1), *Pseudomonas* sp. (DS-2) i *Sphingomonas paucimobilis* (DS-3). Wszystkie szczepy były zdolne do wykorzystania 2,4-D, jako jedyne źródła węgla i w trakcie hodowli w pożywce MSM, 69%, 73% i 54% początkowej dawki 2,4-D zostało zdegradowane, odpowiednio przez szczepy DS-1, DS-2 i DS-3. Analiza stężenia 2,4-dichlorofenolu (2,4-DCP), głównego metabolitu powstałego w trakcie degradacji 2,4-D, wykazała potencjał degradacyjny szczepów DS-1 i DS-2, również w stosunku do tego związku. Niekompletna degradacja 2,4-D w pożywce MSM, wynikała z działania powstałego 2,4-DCP, który odznacza się większą toksycznością w stosunku do bakterii w porównaniu z 2,4-D. Analiza kinetyki degradacji 2,4-D w glebie wykazała zróżnicowany potencjał degradacyjny badanych szczepów bakterii. Czas rozkładu (DT50) herbicydu w glebie inokulowanej szczepami DS-1, DS-2 i DS-3 wyniósł, odpowiednio 6,3, 5,0 i 9,4 dni. Uzyskane dane pokazały wyższą aktywność poszczególnych szczepów bakterii w stosunku do 2,4-D w porównaniu z aktywnością naturalnie występujących mikroorganizmów. W trakcie degradacji 2,4-D w niesterylnej glebie obserwowano 8-dniową lag-fazę, czas niezbędny do namnożenia się szczepów degradujących wprowadzony herbicyd.

Podsumowanie i wnioski

- (1) Zaprezentowane prace badawcze mają charakter badań podstawowych o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym w mikrobiologii gleby i biotechnologii środowiska.
- (2) Po raz pierwszy wyizolowano szczepy bakterii należące do gatunku *S. marcescens* charakteryzujące się zdolnością do degradacji fosforoorganicznego insektycydu diazinonu i

- syntetycznego pyretroidu deltametryny oraz bakterii z rodzajów *Enterobacter* i *Bacillus* degradujących, należące do grupy benzimidazoli, tiofanat metylu i karbendazym.
- (3) Określono potencjał degradacyjny wyizolowanych szczepów bakterii oraz możliwości wykorzystania ich jako narzędzi w projektowaniu strategii bioremediacji gleb zanieczyszczonych pestycydami.
 - (4) Na podstawie przeprowadzonych badań określono, że inokulum poszczególnych szczepów na poziomie 10^6 komórek/g gleby jest wystarczające do skutecznej bioaugmentacji gleb skażonych pestycydami.
 - (5) Wykazano również, że obecność pestycydów w glebie prowadzi do selekcji szczepów bakterii zdolnych do rozkładu tych związków. Szczepy te, wykazują znacznie większy potencjał degradacyjny w porównaniu z mikroorganizmami gleb, które nie miały wcześniej kontaktu z pestycydami.
 - (6) Wymagane są dalsze badania nad interakcjami szczepów bakterii degradujących pestycydy ze składnikami gleby i autochtonicznymi zespołami mikroorganizmów, zanim wybrane szczepy bakterii zostaną zastosowane na szerszą skalę w bioremediacji skażonych gleb.

Piśmiennictwo

- Abo-Amer, A.E., 2011. Biodegradation of diazinon by *Serratia marcescens* DI101 and its use in bioremediation of contaminated environment. J. Microbiol. Biotechnol. 21, 71–80.
- Chen, S., Yang, L., Hu, M., Liu, J., 2011. Biodegradation of fenvalerate and 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Stenotrophomonas* sp. strain ZS-S-01 and its use in bioremediation of contaminated soils. Appl. Microbiol. Biotechnol. 90, 755–767.
- Chino-Flores C., Dantán-González E., Vázquez-Ramos A., Tinoco-Valencia R., Díaz-Méndez R., Sánchez-Salinas E., Castrejón-Godínez M.L., Ramos-Quintana F., Ortiz-Hernández M.L. 2012. Isolation of the *opdE* gene that encodes for a new hydrolase of *Enterobacter* sp. capable of degrading organophosphorus pesticides. Biodegradation 23, 387–397.
- Cycoń M., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2009. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *Serratia* sp. and *Pseudomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. Chemosphere 76, 494-501.
- Cycoń M., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2011a. Biodegradation kinetics of the benzimidazole fungicide thiophanate-methyl by bacteria isolated from loamy sand soil. Biodegradation 22, 573-583.
- Cycoń M., Żmijowska A., Piotrowska-Seget Z. 2011b. Biodegradation kinetics of 2,4-D by bacterial strains isolated from soil. Centr. Eur. J. Biol. 6, 188-198.
- Cycoń M., Żmijowska A., Piotrowska-Seget Z. 2013a. Enhancement of deltamethrin degradation by soil bioaugmentation with two different strains of *Serratia marcescens*. Int. J. Environ. Sci. Technol. DOI: 10.1007/s 13762-013-0322-0.
- Cycoń M., Żmijowska A., Wójcik M., Piotrowska-Seget Z. 2013b. Biodegradation and bioremediation potential of diazinon-degrading *Serratia marcescens* to remove other organophosphorus pesticides from soils. J. Environ. Manag. 117, 7-16.
- Goda S.K., Elsayed I.E., Khodair T.A., El-Sayed W., Mohamed M.E. 2010. Screening for and isolation and identification of malathion-degrading bacteria: cloning and sequencing a gene that potentially encodes the malathion-degrading enzyme, carboxylestrase in soil bacteria. Biodegradation 21, 903–913.
- Hong Q., Zhang Z., Hong Y., Li S. 2007. A microcosm study on bioremediation of fenitrothion-contaminated soil using *Burkholderia* sp. FDS-1. Int. Biodeter. Biodegr. 59, 55–61.
- Horne I., Sutherland T.D., Harcourt R.L., Russell R.J., Oakeshott J.G. 2002. Identification of an *opd* (organophosphate degradation) gene in an *Agrobacterium* isolate. Appl. Environ. Microbiol. 68, 3371–3376.

- Karpouzas D.G., Singh B.K. 2006. Microbial degradation of organophosphorus xenobiotics: metabolic pathways and molecular basis. *Adv. Microb. Physiol.* 51, 119–185.
- Liang, B., Yang, C., Gong, M., Zhao, Y., Zhang, J., Zhu, C., Jiang, J., Li, S., 2011. Adsorption and degradation of triazophos, chlorpyrifos and their main hydrolytic metabolites in paddy soil from Chaohu Lake, China. *J. Environ. Manage.* 92, 2229–2234.
- Matsushita T., Matsui Y., Ikeba K., Inoue T. 2003. Contribution of metabolites to mutagenicity during anaerobic biodegradation of fenitrothion. *Chemosphere* 50, 275–282.
- Ohshiro K., Kakuta T., Sakai T., Hirota H., Hoshino T., Uchiyama T. 1996. Biodegradation of organophosphorus insecticides by bacteria isolated from turf green soil. *J. Ferment. Bioeng.* 82, 299–305.
- Singh B.K., Walker A., Wright D.J., 2004. Biodegradation of chlorpyrifos by *Enterobacter* strain B-14 and its use in bioremediation of contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 4855–4863.
- Singh B.K., Walker A., Denis J., Wright D.J. 2006. Bioremediation potential of fenamiphos and chlorpyrifos degrading isolates: Influence of different environmental conditions. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2682–2693.
- Zhang C., Jia L., Wang S., Qu J., Li K., Xu L., Shi Y., Yan Y. 2010. Biodegradation of beta-cypermethrin by two *Serratia* spp. with different cell surface hydrophobicity. *Biores. Technol.* 101, 3423–342.

V. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowych, dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki

Studia na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach rozpocząłem w 1997 roku, w trakcie których moje zainteresowania naukowe skupiły się na tematyce związanej z mikrobiologią i biotechnologią środowiskową. Pracę magisterską realizowałem w Katedrze Mikrobiologii pod kierunkiem Pana Profesora dr hab. Lesława Badury, a jej tematyka badawcza dotyczyła bakterii zasiedlających gleby silnie zanieczyszczone metalami ciężkimi. W trakcie realizacji badań zostały wyizolowane szczepy metaloopornych bakterii, dla których określono m.in. profil wrażliwości na wybrane metale ciężkie (*MIC*, *Minimal Inhibitory Concentration*). Na podstawie eksperymentów dotyczących izolacji plazmidowego DNA i transformacji nim kompetentnych komórek szczepu bakterii ustalono, że wyizolowane plazmidy niosły informacje genetyczną dotyczącą oporności na kadm i cynk. Bezpośrednim opiekunem naukowym prowadzonych badań była, obecnie, Pani Profesor dr hab. Zofia Piotrowska-Seget, z którą współpracuję do dnia dzisiejszego. Uzyskane wyniki z pracy magisterskiej były na tyle interesujące, że zostały opublikowane w czasopiśmie *Applied Soil Ecology* (IF₂₀₀₅ 1,755; IF_{5-letni} 2,793; 40 pkt MNiSW) (**Zał. 3, pkt. II A, poz. 15**). W lipcu 2002 roku, zdałem egzamin magisterski, uzyskując tytuł magistra biologii w zakresie specjalności biotechnologia roślin i mikroorganizmów.

W lipcu 2002 roku podjąłem pracę w Pracowni Toksykologii Organizmów Glebowych w Zakładzie Badań Ekotoksykologicznych Instytutu Przemysłu Organicznego w Pszczynie, gdzie pracowałem do września 2008 roku, początkowo na stanowisku młodszego specjalisty, następnie asystenta i adiunkta. Pełniłem również funkcję kierownika wspomnianej pracowni. Instytut Przemysłu Organicznego w Pszczynie jest jednostką badawczo-rozwojową pracującą w oparciu o Normę ISO/IEC 17025:2005 i system Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (*GLP, Good Laboratory Practice*), posiadającym akredytację SNAS (*Slovak National Accreditation Service*) oraz Biura do Spraw Substancji i Preparatów Chemicznych. Jako kierownik odpowiedzialny byłem za koordynowanie prac badawczych realizowanych w

ramach działalności pracowni, szkolenia nowozatrudnionych pracowników oraz opracowanie standardowych procedur roboczych dotyczących funkcjonowania pracowni oraz prowadzonych badań. W ramach podstawowych obowiązków prowadziłem badania, mające na celu określenie m.in. ekotoksykologicznego oddziaływania na organizmy glebowe i losów w środowisku glebowym nowych i będących w użyciu preparatów chemicznych, środków ochrony roślin oraz substancji aktywnych wchodzących w skład tych środków, wymagane prawnie przy rejestracji i dopuszczeniu ich do obrotu i stosowania. Tematyka badawcza obejmowała badania: (1) przemian azotu i węgla w glebie, (2) toksyczności ostrej dla dżdżownic, (3) wpływu na rozmnażanie dżdżownic, (4) toksyczności ostrej doustnej dla przepiórki japońskiej, (5) toksyczności pokarmowej dla przepiórki japońskiej, (6) wpływu na rozmnażanie się przepiórki japońskiej, (7) wpływu na kiełkowanie i wczesne stadia rozwojowe roślin, (8) przemian tlenowych i beztlenowych substancji chemicznych w glebie, (9) przemian tlenowych i beztlenowych substancji chemicznych w osadach wodnych, (10) biodegradacji właściwej substancji chemicznych w glebie, (11) adsorpcji/desorpcji substancji chemicznych w glebie oraz (12) fotolizy substancji chemicznych na powierzchni gleby. W trakcie 6-cio letniej pracy w Instytucie uczestniczyłem w 330 badaniach tego typu, z których dla połowy byłem kierownikiem i głównym wykonawcą. W ramach działalności statutowej Instytutu realizowałem projekty badawcze, z których w 3 byłem głównym wykonawcą, a w 6 kierownikiem i głównym wykonawcą (**Zał. 3, pkt. II I, poz. 3-11**). Obejmowały one tematykę badawczą związaną m.in. z wdrożeniem nowych metod badawczych do rutynowego użycia. Pełniłem również nadzór nad Księgą Jakości Zakładu Badań Ekotoksykologicznych i brałem również czynny udział w komitetach organizacyjnych konferencji naukowych organizowanych przez Instytut (**Zał. 4, pkt. C**).

W trakcie pracy w Instytucie, moje zainteresowania naukowe skupiły się na tematyce badawczej dotyczącej oddziaływania pestycydów na aktywność mikrobiologiczną gleb. W celu określenia oddziaływania pestycydów na mikroflorę gleb stosowanych jest wiele metod badawczych. Najprostsze analizy obejmują pomiary oddychania indukowanego substratem oraz analizę stężenia jonów azotanowych w glebie. Pomiary tych parametrów zostały zaadaptowane przez organizacje OECD (*Organization for Economic Co-operation and Development*) oraz EPA (*Environmental Protection Agency*) do badań ekotoksykologicznych dla zobrazowania wpływu pestycydów na przemiany węgla i azotu w glebie. Ze względu na to, że gleba jest bardzo skomplikowanym systemem zależności, zastosowanie pojedynczych testów do oceny oddziaływania pestycydów na aktywność mikrobiologiczną, nie daje pełnego obrazu o zmianach, jakie mogą pojawić się w glebie po zastosowaniu tych związków. Dlatego też, koniecznym wydaje się zastosowanie szerokiego spektrum analiz do oceny bezpieczeństwa stosowanych dawek pestycydów. Taką tematykę badawczą realizowałem m.in. w ramach pracy doktorskiej pod kierunkiem Pana Profesora dr hab. Jacka Kozdrója. Celem pracy, pt. *Ocena ekotoksykologiczna pestycydów na podstawie analizy mikrobiologicznej*, była poszerzona ocena aktywności mikrobiologicznej w glebach traktowanych wybranymi pestycydami. Do badań użyto trzech preparatów pestycydowych (diazinon, linuron i mankozeb+dimetomorf), a jako układ badawczy zastosowano dwie gleby o zróżnicowanych parametrach fizyko-chemicznych. W trakcie badań oceniano (1) oddychanie indukowane substratem, (2) aktywność enzymatyczną gleby (dehydrogenazy, fosfatazy kwaśną i zasadową oraz ureazę), (3) przemiany azotu w glebie (pomiar stężenia jonów azotanowych i amonowych), (4) liczebność mikroorganizmów (ogólna liczebność

bakterii i grzybów oraz liczebność bakterii uczestniczących w przemianach azotu – bakterii nitryfikacyjnych, denitryfikacyjnych i wiążących azot), (5) strukturę i bioróżnorodność frakcji hodowlanej bakterii metodą r/K-strategistów oraz (6) stan fizjologiczny bakterii glebowych. Stwierdzono, że wpływ badanych pestycydów na aktywność mikrobiologiczną był zróżnicowany, a obserwowany efekt był uzależniony od zastosowanej dawki i typu gleby. Wszystkie badane preparaty stymulowały procesy oddechowe w obu glebach. Stwierdzono również zróżnicowany wpływ pestycydów na aktywność poszczególnych enzymów, przy czym wspólną cechą wszystkich badanych związków było silne hamowanie aktywności dehydrogenazowej w całym okresie badań, zwłaszcza w glebach z wyższymi dawkami. Badane pestycydy wpływały istotnie na tempo procesów przemian azotu, co potwierdziły zmiany w ilości jonów azotanowych i amonowych. Wszystkie pestycydy w wyższych dawkach silnie stymulowały liczebności bakterii heterotroficznych i grzybów. Stwierdzono także wpływ na liczebność bakterii uczestniczących w przemianach azotu, przy czym najbardziej wrażliwe na zastosowane pestycydy okazały się bakterie nitryfikacyjne i wiążące azot, których liczebność w glebach traktowanych wyższymi dawkami preparatów zdecydowanie zmniejszyła się. Wykazano również wpływ pestycydów na strukturę zespołów mikroorganizmów, ich bioróżnorodność oraz stan fizjologiczny. W glebach traktowanych wyższymi dawkami pestycydów populacje bakteryjne na ogół reprezentowały strategię typu K, stwierdzono spadek bioróżnorodności gatunków, jak również odnotowano obniżenie częstości podziałów komórkowych i wydłużenie się czasu pojawienia się pierwszych widocznych kolonii bakterii na podłożach mikrobiologicznych. Otrzymane wyniki badań w znacznym stopniu poszerzyły wiedzę na temat interakcji pestycydów ze składnikami środowiska glebowego oraz ich wpływu na mikroflorę, której znaczenie w utrzymaniu równowagi ekologicznej w tym środowisku jest nie do przecenienia. W grudniu 2006 roku obroniłem pracę doktorską i decyzją Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach uzyskałem stopień doktora nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna. Na bazie otrzymanych wyników z pracy doktorskiej powstały cztery publikacje naukowe, które ukazały się w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (**Zał. 3, pkt. II A, poz. 7, 8, 9 i 10**).

W lipcu 2004 roku podjąłem dodatkową pracę w laboratorium analiz środowiskowych – Zakład Inżynierii Środowiska Eko-Projekt w Pszczynie (obecnie SGS Polska, *Société Générale de Surveillance*), gdzie pracowałem do kwietnia 2008 roku, jako specjalista ds. mikrobiologii i parazytologii, jednocześnie pełniąc funkcję kierownika Działu Mikrobiologii i Parazytologii. W ramach swoich obowiązków zorganizowałem od podstaw laboratorium analiz mikrobiologicznych i wdrożyłem system jakości w oparciu o Normy ISO/IEC 17025:2005 i EA-04/10. Pod moim kierownictwem laboratorium uzyskało akredytację Niemieckiej Rady Akredytacyjnej (*DAR, Deutscher Akkreditierungs Rat*). Ponadto, do moich obowiązków należało wdrażanie nowych metod mikrobiologicznych do rutynowego użycia, opracowanie dokumentacji walidacyjnych metod mikrobiologicznych, prowadzenie szerokiego spektrum analiz mikrobiologicznych wody, żywności i próbek środowiskowych w oparciu o obowiązujące międzynarodowe normy i wymagania, uczestnictwo w międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych (*Quality Management, FOODLAB, AQUA*), prowadzenie szkoleń nowych pracowników w zakresie działalności laboratorium i prowadzonych analiz. Uczestniczyłem również w rozbudowie i projektowaniu nowego laboratorium w Pszczynie oraz oddziału laboratorium w Pile.

Od października 2008 roku do chwili obecnej pracuję w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Wirusologii na Wydziale Farmaceutycznym z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, początkowo na stanowisku wykładowcy, a od października 2010 roku na stanowisku adiunkta. Od momentu zatrudnienia, czynnie uczestniczyłem w organizacji dydaktyki oraz prowadzeniu zajęć realizowanych przez Katedrę (**Zał. 4, pkt. I**). W ciągu 5-cio letniego okresu pracy pełniłem funkcje bezpośredniego opiekuna naukowego 9-ciu prac magisterskich oraz byłem promotorem 5-ciu prac magisterskich (**Zał. 4, pkt. J**). Od października 2012 roku pełnię również bezpośrednią opiekę naukową nad doktorantką realizującą pracę doktorską dotyczącą oceny potencjału biodegradacyjnego bakterii i wykorzystanie ich w procesie bioremediacji gleb skażonych antybiotykami (**Zał. 4, pkt. K**).

W ramach działalności statutowej Katedry i Zakładu Mikrobiologii i Wirusologii, jako główny wykonawca, realizowałem w latach 2011-2012 projekt badawczy pt. *Wykorzystanie bakterii zdolnych do degradacji wybranych pestycydów w procesie bioremediacji skażonych gleb* (**Zał. 3, pkt. II I, poz. 2**). Wyniki otrzymane w trakcie realizacji projektu zostały opublikowane w czasopiśmie *International Journal of Environmental Science and Technology* (IF₂₀₁₂ 1,844; IF_{5-letni} 1,984; 35 pkt MNiSW) i zostały włączone do cyklu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe (**Zał. 2, pkt. IV B, poz. 1**). W latach 2009-2010 starałem się o finansowanie badań dotyczących wykorzystania biochemicznych i molekularnych markerów w ocenie aktywności i struktury zespołów mikroorganizmów w glebach skażonych pestycydami ze środków pozauczelnianych. Pomimo, że złożone aplikacje do MNiSW otrzymały oceny bardzo dobre i wyróżniającą, nie uzyskały finansowania. Natomiast, sukcesem zakończyły się starania o fundusze MNiSW w ramach programu *Iuventus Plus* dla Młodych Naukowców na realizację w 2011 roku projektu badawczego pt. *Ocena potencjału biodegradacyjnego i bioremediacyjnego bakterii izolowanych z gleby skażonej diazinonem w stosunku do innych związków z grupy insektycydów fosforoorganicznych*, którego byłem kierownikiem i głównym wykonawcą (**Zał. 3, pkt. II I, poz. 1**). Otrzymane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Environmental Management* (IF₂₀₁₂ 3,057; IF_{5-letni} 3,545; 35 pkt MNiSW) i zostały włączone do cyklu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe (**Zał. 2, pkt. IV B, poz. 2**).

Ze względu na realizowaną tematykę badawczą, wielokrotnie byłem proszony o wykonanie recenzji artykułów z zakresu ekotoksykologii, mikrobiologii i biotechnologii środowiska. Dotychczas recenzowałem 103 prace dla 26 różnych czasopism naukowych, m.in. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *Applied Soil Ecology*, *Biodegradation*, *Chemosphere*, *Ecotoxicology*, *Environmental Science and Pollution Research*, *Journal of Environmental Management*, *Journal of Hazardous Materials*, *PLOS ONE*, *World Journal of Biotechnology and Microbiology* (**Zał. 4, pkt. P**). W 2013 roku zostałem zaproszony również do pracy w radach naukowych redakcji *Current Science Perspectives* i *World Journal of Agricultural Research* (**Zał. 4, pkt. G**). Jako wyróżnienie traktuję zaproszenie do napisania rozdziału pt. *Response of soil microflora to pesticides* do monografii: *Pesticides: Evaluation of Environmental Pollution* (red. Nollet L., Rathore H.), która ukazała się drukiem w wydawnictwie CRC Press w 2012 roku (**Zał. 3, pkt. D, poz. 1**). Jestem również współautorem ekspertyzy, wykonanej na zlecenie Górnośląskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów S.A. w Katowicach, dotyczącej skażenia wody wodociągowej na terenie Rudy Śląskiej w 2007 roku (**Zał. 4, pkt. M**).

W celu realizacji tematów badawczych z zakresu mikrobiologii i biotechnologii środowiska nawiązałem współpracę z naukowcami z Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach, Instytutu Przemysłu Organicznego w Pszczynie oraz Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie, wynikiem której są liczne publikacje w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym. Moje obecne zainteresowania naukowe skupiają się na: (1) skryningu ze środowiska i identyfikacji nowych szczepów bakterii zdolnych do degradacji ksenobiotyków organicznych (pestycydy, antybiotyki, związki ropopochodne), (2) określeniu ich potencjału degradacyjnego i bioremediacyjnego, a także (3) optymalizacją procesów degradacji ksenobiotyków organicznych przez mikroorganizmy. Kontynuuję również badania dotyczące oceny wpływu pestycydów na aktywność i strukturę zespołów mikroorganizmów glebowych. Ze względu na fakt, iż hodowlana frakcja stanowi niewielki ułamek całego zespołu mikroorganizmów glebowych, dlatego też, w celu oceny jego strukturalnej i genetycznej bioróżnorodności po zastosowaniu pestycydów poszerzyłem warsztat badawczy o wykorzystanie markerów genetycznych, tj. sekwencji genu kodującego 16S RNA, analizowanych techniką elektroforezy w gradiencie czynnika denaturującego (*PCR-DGGE, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) oraz markerów biochemicznych, tj. fosfolipidowych kwasów tłuszczowych (*PLFAs, Phospholipid Fatty Acids*). Dzięki określeniu CLPP (*Community Level Physiological Profile*) przy zastosowaniu metody Biolog®, opierającej się na ocenie zdolności mikroorganizmów do wykorzystania różnych związków organicznych, możliwe jest poznanie bioróżnorodności funkcjonalnej badanych zespołów mikroorganizmów.

Wyniki projektów badawczych, w realizacji których zastosowano opisane metody, stanowią podstawę czterech publikacji, z których dwie ukazały się w czasopiśmie *Applied Soil Ecology* (IF₂₀₁₂ 2,106; IF_{5-letni} 2,793; 40 pkt MNiSW) (**Zał. 3, pkt. II A, poz. 2 i 3**), a kolejne dwie, w czasopiśmie *Journal of Environmental Management* (IF₂₀₁₂ 3,057; IF_{5-letni} 3,545; 35 pkt MNiSW) (**Zał. 3, pkt. II A, poz. 1 i 4**). Celem badań była ocena strukturalnej, genetycznej i funkcjonalnej bioróżnorodności zespołów mikroorganizmów w glebach skażonych herbicydem napropamidem oraz insektycydami teflubenzuronem i imidaklopridem na podstawie analizy PLFA, DGGE oraz CLPP. Należy podkreślić, że otrzymane wyniki są pierwszymi doniesieniami dotyczącymi zmian w strukturze zespołów mikroorganizmów w glebie po zastosowaniu powyższych pestycydów. Badania wykazały, że zastosowane pestycydy zmieniały strukturalną, genetyczną i funkcjonalną bioróżnorodność mikroorganizmów. Ponadto, analiza uzyskanych profili DGGE wykazała, że po aplikacji pestycydów dochodzi do zmian w strukturze zespołów mikroorganizmów i pojawienia się w nich bakterii zdolnych do degradacji pestycydów.

Z przeprowadzonych dotychczas badań nad aktywnością i strukturą zespołów mikroorganizmów należy wnioskować, że użycie dopiero poszerzonej analizy z wykorzystaniem wielu parametrów i metod badawczych pozwala na relatywnie prawdziwą ocenę procesów zachodzących wśród mikroorganizmów w glebach traktowanych pestycydami. Warto dodać, że realizowane przeze mnie prace badawcze mają charakter badań podstawowych o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym w mikrobiologii i biotechnologii środowiska. Wszystkie dotychczasowe prace badawcze były prowadzone w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych. Przedmiotem moich zainteresowań jest również rozpoznanie procesów mikrobiologicznych zachodzących w warunkach naturalnego środowiska glebowego skażonego ksenobiotykami.

Wynikiem moich dotychczasowych badań jest 28 publikacji naukowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym i krajowym (w 25 jako pierwszy autor i w 3 jako drugi autor) oraz 1 rozdział w książce. Za swój dotychczasowy dorobek naukowy otrzymałem dwie nagrody naukowe JM Rektora Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach w 2010 i 2012 roku oraz stypendium naukowe przyznane w 2011 roku przez MNiSW dla wybitnego młodego naukowca (**Zał. 3, pkt. II J**). W sumie, za dotychczasowy dorobek naukowy uzyskałem następujące wskaźniki:

Sumaryczny Impact Factor* według listy *Journal Citation Reports (JCR)*, zgodnie z rokiem opublikowania – **35,402 (IF_{5-letni} 45,106)** (po doktoracie – IF **33,647**; IF_{5-letni} **42,313**),

Sumaryczna punktacja MNiSW* (wg listy z 2012r.) – **593** (po doktoracie – **533**),

Liczba cytowań publikacji*: wg bazy *Web of Science (WoS)* – **165** / wg bazy *Scopus* – **179**,

Indeks Hirscha*: wg bazy *Web of Science (WoS)* – **7** / wg bazy *Scopus* – **7**.

*Dane z dnia: 3. 10. 2013r.